

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE ^{N°} 467

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Léon SCHWARZ

Né le 21 Mai 1906 à TARNOW (Pologne)

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

Etude des réactions colorées
de floculation

(Principe et technique de Hecht)

Président de thèse : M. GOUGEROT, Professeur

Librairie L. RODSTEIN

17, Rue Cujas, PARIS (V^e)

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Léon SCHWARZ

Né le 21 Mai 1906 à TARNOW (Pologne)

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

Etude des réactions colorées
de floculation

(Principe et technique de Hecht)

Président de thèse : M. GOUGEROT, Professeur

Librairie L. RODSTEIN
17, Rue Cujas, PARIS (V°)

—
1935

LE DOYEN : ROUSSY

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE
Physiologie	Léon BINET
Physique médicale	STROHL
Chimie médicale	DESGREZ
Bactériologie	Robert DEBRE
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie médicale et générale	BAUDOIN
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU
Anatomie pathologique	ROUSSY
Histologie	CHAMPY
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU
Thérapeutique	N.
Hygiène et médecine préventive	TANON
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET
Clinique médicale	LOEPER
	CARNOT
	CLERC
	Marcel LABBE
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOUILLET
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	H. CLAUDE
Clinique des maladies du système nerveux	GOUGEROT
Clinique des maladies infectieuses	GUILLAIN
	LEMIERRE
Clinique chirurgicale	CUNEO
	GOSSET
	GREGOIRE
	LENORMANT
Clinique ophtalmologique	TERRIEN
Clinique urologique	MARION
	BRINDEAU
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	PROUST
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL
Clinique propédeutique	SERGEANT
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU
	HOVELACQUE
	MULON
Professeurs sans chaire	OLIVIER
	VERNE
	MOCQUOT



II. — AGREGES EN EXERCICE

MM.		MM.	
BENARD Henri ..	Pathologie médicale.	LEMAIRE	Pathologie expéri- mentale.
BERNARD Etienne	Pathologie médicale.	LEVEUF	Pathologie chirurgi- cale.
BOULIN	Pathologie médicale.	Mlle J. LEVY	Pharmacologie.
BULLIARD	Histologie.	LEVY-VALENSI ..	Neurologie et Psy- chiâtrie.
CATHALA	Pathologie médicale.	MOREAU	Pathologie médicale.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.	MOULONGUET ..	Pathologie chirurgi- cale.
DOGNON	Physique.	MOUQUIN	Pathologie médicale.
FEY	Urologie.	OBERLING	Anatomie pathologi- que.
GALLIARD	Parasitologie.	PETIT-DUTAILLIS	Pathologie chirurgi- cale.
GASTINEL	Bactériologie.	PIEDELIEVRE ...	Médecine légale
DE GAUDART		PORTES	Obstétrique.
D'ALLAINES ...	Pathologie chirurgi- cale.	RICHET	Physiologie.
GAYET	Physiologie.	SANNIE	Chimie biologique.
GIROUD	Histologie.	SENEQUE	Pathologie chirurgi- cale.
HAGUENAU	Pathologie médicale.	TROISIER	Pathologie expéri- mentale.
HALPHEN	Oto-rhino-laryngolo- gie.	TURPIN	Pathologie médicale.
HAZARD	Pharmacologie.	VIGNES	Obstétrique.
HUGUENIN	Anatomie patholo- gique.	WILMOTH	Pathologie chirurgi- cale.
JOANNON	Hygiène.		
LABBE Henri	Chimie biologique.		
LACOMME	Obstétrique.		
LANTUEJOUL ...	Obstétrique.		
LAROCHE Guy ..	Pathologie médicale.		

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE pour le service des examens

MM.		MM.	
ALGLAVE	Pathologie chirurgi- cale.	LEROUX	Anatomie pathologi- que.
BUSQUET	Pharmacologie.	NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
CHAILLET-BERT .	Physiologie.	ZIMMERN	Physique.

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

MM.

ABRAMI	}	Clinique médicale.
ALAJOUANINE ..		
AUBERTIN		
BRULE		
CHABROL		
CHIRAY		
DONZELOT		
DUVOIR		
HARVIER		
LIAN		
PASTEUR- VALLERY- RADOT		
SEZARY		

MM.

BASSET	}	Clinique chirurgicale.
BROCC		
CADENAT		
GATELLIER		
HEITZ-BOYER ..		
MOURE		
QUENU		
SCHWARTZ		
VELTER		

MM.

ECALLE	}	Clinique obstétricale.
GUENIOT		
LE LORIER		
LEVY-SOLAL		
METZGER		

V. — CHARGES DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDOUX-LEBARDE	Radiologie clinique.
WEIL-HALLE	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MERE (in mémoriam)

A MON PERE

Bien faible témoignage de mon amour filial.

A MES FRERES ET SŒURS

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

M. le Professeur GOUGEROT
Professeur de Clinique
de maladies cutanées et syphilitiques
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis
Président de la Société Française
de prophylaxie sanitaire et morale

*Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la
présidence de cette thèse. Témoignage de respec-
tueuse reconnaissance et de profonde gratitude
pour son enseignement éclairé qu'il nous a tou-
jours prodigué.*

Au docteur HUGO HECHT

Docteur de l'Université de Prague,

*A qui nous devons des précieuses indications et
conseils concernant notre thèse.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde
gratitude.*

A Mme V. ANDREANI-CONSTANTIN,

Diplômée de l'Ecole de Sérologie,

de la Faculté de Médecine de Paris

En témoignage de toute ma gratitude.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Professeur NOBECOURT

Professeur agrégé DESMAREST

Docteur F. RAMOND

Professeur agrégé J. CATHALA

Docteur FAROY

Docteur FAURE-BEAULIEU

Docteur GOUVERNEUR

Docteur BASCH

AVANT-PROPOS

L'importance que présentent à l'heure actuelle les réactions sérologiques de la syphilis, devenues d'un usage quotidien du médecin praticien nous a incité à étudier en détails les différents procédés sérologiques encore peu répandus jusqu'à présent.

D'où vient, en effet, l'intérêt de la question ?

Du fait qu'il est fréquent encore en ce moment de constater des différences dans l'appréciation des résultats des examens sérologiques soumis aux différents laboratoires.

Rien d'étonnant à ce que ces variations fassent planer un doute dans l'esprit du praticien, devant des résultats partiels fournis par les laboratoires.

La question est, en effet, de trop grande envergure pour qu'à ce point de vue puissent persister des divergences ou des incertitudes quelles qu'elles soient. Il est, en effet, inutile d'insister sur l'importance vitale que présente ce résultat pour le malade, et on ne saurait trop étudier cette question pour arriver à une précision sinon absolue du moins indiscutable.

Tel est le but que poursuit notre modeste travail.

HISTORIQUE

On se sert actuellement pour dépister sérologiquement la syphilis de deux groupes de réactions. Les méthodes dites d'hémolyse ou *indirectes* à savoir *Bordet-Wassermann*, *Jacobstahl*, *Hecht*, et les méthodes dites de *floculation* ou *directes*, *Hecht-Müller*, *Meinicke*, *Vernes*, *Sachs-Witebsky*, *Kahn*.

Les différences qui séparent les deux groupes sont bien plus apparentes que réelles, car au fond les unes et les autres sont les phénomènes colloïdo-chimiques.

C'est vers 1901 que *Bordet* et *Gengou* ont découvert leur réaction qui était à ce moment là assez générale, reposant sur la notion de fixation de complément. *Neisser* et *Bruck* ont été les premiers à appliquer (1906) cette réaction à la syphilis, mais elle n'est entrée en pratique qu'à la suite de la découverte de *Wassermann*, qui s'est servi de l'extrait de foie hérédo-syphilitique, comme antigène. Jusqu'à cette époque cette réaction paraît être bien spécifique. Mais déjà *Levaditi* et *Marie* (1907-1908) obtiennent des résultats semblables avec des extraits d'organes sains et déplacent par cela même tout le problème vers la physico-chimie, en ouvrant ainsi grandement les portes à toutes les réactions de *Floculation*. Ceci rattache la réac-

tion de *Bordet-Wassermann* à un simple phénomène de floculation. Cependant, celle-ci n'offre pas encore une visibilité suffisante au moment où le phénomène observé commence à se manifester et ceci non pas seulement à l'œil nu, mais même lors de l'application des instruments d'optique. Elle est, néanmoins, bien réelle, se produisant entre le sérum et l'antigène. Pour la percevoir on est obligé d'avoir recours, par un détour, au procédé imité de celui de *Bordet et Gengou*.

Toutefois, il est probable, que l'alexine ajoutée à ce mélange ne joue que le rôle d'un réactif de floculation.

Le principe ainsi posé (sérum + antigène = mélange colloïdal) il s'agissait maintenant de préciser la technique des réactions, pour former des flocons plus gros et plus faciles à déceler. C'est à la résolution de ce problème que de nombreux savants se sont attachés :

Jacobstahl (1910), *Bruck et Hidalsa* (1910), *Hecht* (1914), *Meinicke* (1917), *Sachs et George* (1918), *Vernes* (1921), *Muller* (1921), *Hecht* (1922 et 1933). La conférence de Copenhague a définitivement démontré leur valeur.

Aux techniques de floculation lente succèdent les techniques de formation des flocons rapides même instantanés. Les flocons nombreux sont remplacés par une agglomération de flocons (*Hecht-Muller*), et enfin la dernière modification en date que nous avons l'honneur de présenter ici, la lecture directe de la floculation est remplacée par la lecture à l'aide des couleurs (*Hecht*, 1933).

AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES REACTIONS ACTUELLES DE FLOCCULATION

Toutes les méthodes de floculation reposant sur le même principe on est obligé de se servir d'éléments analogues, pour obtenir la floculation. Un de ces éléments est le sérum, ici, aucun changement. Le second élément, par contre, est plus ou moins modifié, et chaque méthode se sert d'un extrait — différent à de nombreux points de vue. En principe, on peut diviser les antigènes en trois groupes :

- 1° composés d'extraits organiques (*Vernes, Sachs*) ;
- 2° extrait alcoolique des organes auxquels on ajoute des résines (*Dold, Meinicke, Gallemard et Dujarric, etc.*) ;
- 3° extrait alcoolique des organes, et choléstérine (*Kahn, Hecht-Muller*).

Mais, au fond, le principe actif dans ces trois groupes est le même, ce sont des lipides. Donc, d'une part, le sérum, et de l'autre, des lipides, mélangés ensemble — donnent un trouble, et l'interprétation de ce trouble résultant de l'association de ces deux facteurs, permet la lecture des résultats. Toutefois, la technique de la réaction doit être minutieusement réglée. Chaque point doit être envisagé et fixé — la dilution de l'extrait, la température, la salinité du milieu, le PH, les volumes respectifs de sérum et d'extraits — toutes conditions d'importance capitale pour la réussite

de la réaction. Une fois la technique de la réaction fixée, la mise en pratique devient plus simple. Mais étant donné les nombreux facteurs qui entrent en jeu, les erreurs sont faciles et parfois grossières, tant au cours de la réaction qu'à l'interprétation des résultats. Au cours de la réaction, la température, la verrerie, l'extrait, etc., peuvent facilement fausser les résultats. Bien plus délicate est la question de la lecture et de l'interprétation des résultats. Ni l'œil nu, ni l'œil muni d'appareils d'optique même les plus perfectionnés, n'est capable de situer avec précision le seuil de la positivité. Ces causes provoquent, par conséquent, des erreurs et finissent par discréditer les méthodes de floculation pourtant d'une sensibilité étonnante.

Pour éviter ces erreurs, au moins en ce qui concerne la lecture et l'interprétation des résultats, le Dr. *Hecht* de Prague a pu réussir et mettre au point une méthode nouvelle que nous avons le grand honneur d'exposer ici.

Puisque à la base de toutes les réactions de floculation se trouvent des processus colloïdo-chimiques, il était tout indiqué d'introduire dans ces réactions des colorants colloïdes, afin de rendre, d'une part, la floculation plus apparente par la coloration des flocons, et, d'autre part, les faire apparaître plus volumineux par l'entraînement des colorants colloïdes durant la floculation de l'extrait.

En 1922, le Dr. *Hecht* est arrivé déjà à colorer l'extrait colloïdal, mais obtenant à peine une coloration de contraste. Après de longues et patientes recherches cette difficulté a été vaincue et le Dr. *Hecht* a pu faire une démonstration en 1933 à l'institut *Alfred Fournier*, à Paris, de sa nouvelle réaction colorée.

LES COLORANTS EMPLOYÉS
ET LE MODE DE COLORATION DE L'ANTIGÈNE
AINSI QUE DE LA SOLUTION PHYSIOLOGIQUE

Antigène

L'Antigène, différant selon la réaction envisagée, doit être au préalable coloré. Le colorant électif, expérimenté et trouvé après de longues et patientes recherches est, selon le Dr. *Hecht*, le rouge de Sedan (colorant lipoïde (3 R. I. G. *Farbenindustrie*. (*Soudanrot*)).

On établit la concentration de la couleur de l'antigène à l'aide d'un simple titrage. Dans un verre (*Pulverglas*) rempli d'un demi litre de l'antigène correspondant, on met une ou deux pincées de rouge de Sedan, on l'agite et on laisse déposer, ou bien, on centrifuge. Il faut obtenir une solution saturée de l'antigène coloré. Ensuite, à l'aide de quelques expériences on établit le titrage nécessaire de la coloration saline que l'on marque sur les flacons d'extrait.

Coloration de la solution saline

Pour colorer cette solution, on peut employer différents colorants, il faut, cependant, les choisir de telle sorte que :

- 1° le contraste des couleurs soit net ;
- 2° les colorants ne puissent pas dissoudre le conglomerat ;

3° l'eau physiologique colorée contienne une quantité suffisante de colorant, afin que pendant la durée du mélange à l'extrait coloré, on ne puisse pas reconnaître sa propre couleur. En cas de réaction positive, la coloration de contraste doit apparaître claire, et le précipité nettement en rouge. En cas de réaction négative, on doit avoir une couleur incertaine du liquide qui se trouve être troublé.

L'extrait sans cholestérine possède son maximum de réaction dans le mélange de 3 cc. d'extrait coloré saturé, avec 1 cc. d'extrait non saturé.

Veux-t-on augmenter la force de coloration, on est alors obligé d'augmenter la coloration de l'extrait, aussi bien que celle du contraste de l'eau saline physiologique. D'autre part, si on augmente la quantité de l'extrait, on est obligé d'augmenter également la quantité de sérum, qui sera lui aussi dilué avec une plus grande quantité d'eau physiologique.

Parmi les colorants de la solution saline, *Hecht* recommande :

- le bleu de méthylène de *Löffler* ;
- la solution aqueuse du bleu de Victoria (Victoriablau), 1 % ;
- solution aqueuse du vert de naphtol 1/2 % ;
- bleu de méthylène, 1 goutte pour 60 cc., d'eau physiolog. (NaCl) ;
- victoriablau, 1 goutte pour 50 cc. d'eau physiolog. ;
- vert de naphtol, 1 goutte pour 15 cc. d'eau physiolog.

La composition de différents colorants s'est avérée très

bonne comme coloration de contraste du flacon coloré en rouge écarlate.

En voici une :

- bleu de méthylène, 1 goutte pour 40 cc., 3 parties ;
- Bleu de Victoria, 1 goutte pour 35 cc., 3 parties ;
- vert de naphтол, 1 goutte pour 15 cc., 4 parties.

Si on ajoute 0,15 cc. d'une solution aqueuse du vert de diamant à 1 % aux matières colorantes précédents, on améliore encore davantage le contraste.

PRINCIPE

Il s'agissait pour le Dr. *Hecht* de trouver une réaction de floculation telle que pendant la durée de celle-ci l'extrait floculant puisse entraîner avec lui une partie de la matière colorante. En même temps, il importait que le liquide surnageant après la floculation de l'extrait, ait, en cas de réaction positive, une coloration *différente* de celle obtenue, dans la réaction négative, durant laquelle l'extrait ne provoque pas de floculation.

Les principales expériences ont été effectuées sur la réaction de congglomération (*Ballungsreaktion*) de *Hecht-Muller*. Néanmoins, les essais ont démontré que la coloration peut être étendue à toutes les réactions de floculation effectuées, avec comme antigène, un extrait alcoolique d'organes et sans addition de baume (*Sachs-Georgi, Kahn, Kline, Hinton*).

Toutefois, nous nous bornerons ici, à l'application des colorants uniquement aux trois réactions suivantes, à savoir :

Hecht-Muller, Sachs-Witebsky, Kahn.

Par conséquent, le principe de la double coloration peut se résumer en trois points cardinaux :

1. Colorer l'extrait avec un colorant électif, de façon à ce que après la floculation des colloïdes de l'extrait il ne reste aucune trace de ce colorant dans le liquide surnageant ;

2. Utiliser pour la coloration de contraste de la solution saline, un colorant qui ne colore point, ou d'une façon minime, les colloïdes de l'antigène ;

3. Ces deux colorants en se mélangeant doivent donner une coloration *fondamentalement* différente de ces deux colorants pris séparément.

Nous exposerons plus loin la technique précise des réactions colorées. Bornons-nous pour le moment d'annoncer « *grosso modo* » les principaux points.

On mélange dans des proportions différentes l'antigène coloré non dilué, ainsi que des dilutions de l'antigène coloré avec l'antigène non coloré.

Antigène coloré : 5 cc., 4 cc., 3 cc., 2 cc.

Antigène non coloré : 1 cc., 1 cc., 1 cc., 1 cc.

Ce schéma permet de s'orienter dans ce sens, qu'il nous donne l'indication du taux de dilution telle qu'à ce taux l'antigène arrive à renfermer précisément une quantité suffisante de colorant, pour que la totalité de celui-ci, en cas de réaction positive, puisse être absorbée par les flocons. Dans ce cas le liquide devient absolument limpide tandis qu'en cas de réaction négative, le liquide sera rougeâtre et trouble. Le sérum sera, évidemment, ajouté normalement, ainsi que la solution saline colorée. Notons que les colorants de la solution saline ne doivent pas dissoudre le conglomerat.

TECHNIQUE DES REACTIONS COLOREES

Nous avons vu précédemment de quelle manière doit s'opérer la coloration de l'antigène et de la solution saline. Nous ne reviendrons plus sur ce point. Dans la suite, nous exposerons la technique précise des trois réactions de floculation, en insistant seulement sur les points qui différencient la technique habituelle de ces réactions de floculation des réactions de floculation colorée.

TECHNIQUE DE LA REACTION COLOREE DE CONGLOMERATION

(Ballungs-réaktion), de Hecht-Muller (H.M.F.B.R.)

Pour effectuer cette réaction, il faut avoir en réserve :

1° une solution physiologique saline (NaCl) à 10 % ;

2° une solution saline légèrement alcalinisée ;

NaCl : 0,9

NaOH : 0,1

Aqua. distillata ad. 100.

3° une solution aqueuse du vert de naphthol à 1/2 %.

Tous les jours, et au fur et à mesure des besoins, on préparera de ces solutions souches, une solution saline (il faut qu'elle soit fraîche), de la façon suivante :

a) 8 cc. de la solution physiolog. saline (NaCl), à 10 % ;

- b) 0,8 cc. de la solution saline alcalinisée ;
- c) 100 cc. d'eau distillée.

Immédiatement avant la réaction, l'extrait sera dilué avec la solution ainsi fraîchement préparée, et non colorée, suivant le titrage indiqué sur les flacons. Pour 0,1 cm d'extrait on ajoutera 0,05 cm de la solution saline. La dilution doit se faire de préférence dans de petits tubes à hémolyse, où le mélange sera favorisé par des manœuvres de retournement effectuées à plusieurs reprises. L'extrait ainsi dilué, on en prélèvera 0,15 cc. pour l'ajouter à 0,15 cc. de sérum inactivé et préparé. Ensuite, on secouera le porte-tubes fortement, à la main, pendant 10 secondes et aussitôt cient la technique qu'il a mise au point. après on ajoutera à chaque tube 1 cc. de la solution physiologique colorée.

La dilution de la solution physiologique colorée sera faite suivant le titrage indiqué.

Après une forte agitation, on place le porte-tubes au bain-marie à 55-56 degrés. Après l'avoir laissé pendant 10 minutes, on le retire du bain-marie. La première lecture peut être effectuée après une demi-heure, mais la lecture définitive doit être faite une heure et demi après la sortie du porte-tubes du bain-marie.

Les sérums positifs. — Montrent une forte congglomération colorée en rouge et nageant dans un liquide verdâtre. Au bout d'un certain temps, cette congglomération descend au fond du tube.

Les sérums négatifs. — Ne montrent pas de congglomération, et le liquide trouble présente une coloration rougeâtre.

L'apparition de petites floculations colorées en rouge survenant après la lecture définitive (1 h. 1/2), ne doit pas être considérée comme positive.

Si la réaction de conglomération est trop sensible — on peut diminuer sa sensibilité de plusieurs façons :

- 1° diminuer le temps de séjour au bain-marie. On prend 3 échantillons de chaque sérum — positif et négatif — et on les laisse 5, 8, 10 minutes, successivement. Ensuite, on laisse les tubes une heure à la température de laboratoire, on procède à la lecture, et on choisit parmi les temps celui, dont l'effet se rapproche le plus possible de la réaction type ;
- 2° si cela n'est pas suffisant, on augmente la concentration de la solution saline de 0,9 % à 1 % ;
- 3° on peut encore diminuer la sensibilité de l'extrait, en augmentant son alcalinité. On ajoutera un peu plus de solution souche saline et alcaline à 0,1 % à la solution physiologique préparée.

On fera surtout attention de ne pas prendre les légères conglomérations apparaissant après une heure et demi à la température de laboratoire, comme des réactions positives.

TECHNIQUE DE LA REACTION DE FLOCCURATION
DE SACHS-WITEBSKY, COLOREE PAR HECHT ,

(Sachs-Witebsky, Hecht, Reaktion)

On peut travailler avec l'antigène coloré aussi bien suivant l'ancienne que la nouvelle méthode. Nous rappelons que l'antigène dans la réaction de *Sachs-Witebsky* est le même que dans la réaction de *Sachs-Georgi*, mais plus concentré.

Méthode ancienne :

La dilution de l'extrait est triple. On verse une partie de l'extrait dans deux parties de solution saline à 9 %, on secoue fortement le tube, et on le laisse à la température de laboratoire pendant 10 minutes. A 0, 2 cc. de sérum inactivé on ajoute 0,1 cc. d'extrait dilué. On agite pendant 5-30 secondes, et on laisse pendant une demi-heure à la température du laboratoire. Ensuite, on ajoutera 1 cc. de la solution physiologique saline colorée. On centrifugera.

Pour le mélange des colorants, se baser sur le titrage indiqué. Par exemple : 0,2+12 vol. sol. physiol.

Méthode nouvelle :

La dilution de l'extrait est de 1/12. A une partie de l'extrait on ajoute 2 parties d'une solution saline physiologique et on mélange par retournement. Après 5 minutes de repos à la température de laboratoire, on ajoute encore 9 parties de la solution saline physiologique, et on procède immédiatement à la réaction. A 0,2 cc. de sérum

inactivé, on ajoute 0,2 cc. d'extrait dilué. On agite fortement et :

1) on laisse reposer de 4 à 6 heures à la température du laboratoire

ou bien :

2) 3 minutes dans l'agitateur

Après, on ajoute, dans les deux cas, 1 cc. de la solution saline physiologique colorée. On agite, on centrifuge, on procède à la lecture. Le mélange des colorants doit être indiqué sur les flacons contenant l'extrait.

Les sérums positifs. — Montrent un précipité rouge, au-dessus duquel on trouve un liquide vert-clair.

Les sérums négatifs. — Ne présentent pas de précipité, et le liquide est de couleur rose trouble.

Les sérums intermédiaires. — Sont également facilement décelables.

TECHNIQUE DE LA REACTION DE KAHN COLOREE PAR HECHT (KAHN-HECHT)

La réaction colorée de *Kahn-Hecht* est par sa technique étroitement liée à la technique décrite par *Kahn* lui-même.

Rien ne s'oppose à ce qu'on effectue cette réaction en trois rangées. Néanmoins, après avoir acquis une certaine expérience, on pourra travailler suffisamment bien, avec la première rangée, seulement.

Première rangée :

- 0,05 cc. d'extrait dilué ;
- 0,15 cc. de sérum inactivé ;
- 1 cc. de solution saline physiologique colorée.

Seconde rangée :

- 0,025 cc. d'extrait dilué ;
- 0,15 cc. de sérum inactivé ;
- 0,5 cc. de solution saline physiologique colorée.

Troisième rangée :

- 0,0125 cc. d'extrait dilué ;
- 0,15 cc. de sérum inactivé ;
- 0,5 cc. de solution saline physiologique colorée et dédoublée 1/2.

La dilution de l'extrait avec une solution saline phy-

siologique non colorée sera effectuée immédiatement avant la réaction, selon le titre indiqué, par exemple : 1+1,4. Les quantités nécessaires d'extrait et de la solution saline seront mesurées dans un tube — et selon la prescription de *Kahn* — seront mélangées rapidement, en versant l'eau sur l'extrait et en faisant le transvasement. Laisser murir l'extrait ainsi préparé pendant 10 minutes. Utiliser, au plus tard, 30 minutes après.

La solution physiologique sera colorée et titrée différemment, en rapport avec le colorant employé, par exemple : 1/100. Il est indiqué d'avoir toujours en réserve une solution de vert de naphthol à 1/2 % avec de l'eau distillée.

La réaction, une fois effectuée, en suivant exactement les règles de *Kahn*, on centrifuge les tubes pendant 10 minutes (1-2.000 tours à la minute) et aussitôt après, on peut procéder à la lecture, en toute sécurité.

Remarque : Pour éviter l'hypersensibilité ne pas prolonger la centrifugation et comparer le résultat avec les sérums négatifs.

Lecture

	Liquide	Précipité
++	clair, vert brillant	rouge abondant
+	trouble, verdâtre	rouge léger
+—	trouble, verdâtre, rose	rouge, traces
—	trouble, jaunâtre, rose	néant

La lecture se fait sur un fond blanc (papier blanc).

RESULTATS

Il ne nous appartient pas de discuter ici la sensibilité et la spécificité des réactions de floculation en général et des trois réactions envisagées dans ce travail en particulier. Le seul point que nous nous sommes efforcés de préciser, était de savoir si par l'introduction des colorants dans ces trois réactions, la sensibilité et la spécificité de celles-ci se sont modifiées par rapport à leur degré antérieur.

Or, en se basant sur la grande expérience du Dr. Hecht, dont nous apportons plus loin les résultats, sur les réactions effectuées dans le laboratoire de sérologie du Professeur Gougerot à St-Louis et enfin sur quelques réactions personnelles. Nous arrivons au résultat suivant : les réactions colorées sont légèrement plus sensibles que les réactions non colorées, toutefois leur sensibilité peut être modifiée par quelques expériences comparatives.

L'explication de la sensibilité plus fine de la réaction colorée pourra être trouvée dans la facilité de la lecture des résultats.

Cette facilité a permis d'écarter un facteur personnel qui jouait, auparavant, un grand rôle dans l'interprétation. Ce facteur personnel, éliminé, il est permis de croire que, grâce aux recherches de notre Maître le Dr. Hecht, les erreurs seront peut-être moins nombreuses dans l'interprétations des résultats.

Statistiques du laboratoire du Prof. Gougerot

Sur 182 sérums :

Concordance avec la réaction de Kahn non colorée,
164, soit 89,4 %

Divergences 10,6 % qui se répartissent :

7,9 %, 14 cas, Kahn non colorée, négatif ;
— — — colorée, douteux ;
2,7 %, 4 cas, Kahn non colorée, douteux ;
— — — colorée, positif.

Statistique personnelle

Sur 10 sérums :

Concordance avec la réaction de Kahn, non colorée : 7.

Divergences :

1 cas Kahn non colorée, douteux ;
— — colorée, positif ;
— — non colorée, négatif ;
— — colorée, douteux.

CONCLUSIONS

La méthode de la double coloration pourra être appliquée à toutes les réactions de floculation, dans lesquelles on se sert — comme antigène — d'un extrait alcoolique d'organes, sans addition de baumes. Néanmoins, elle trouve sa plus belle application dans la réaction de congglomération de *Hecht-Muller (Ballungs-Reaktion)*.

L'introduction des colorants colloïdes dans la réaction de floculation permet, d'une part, rendre la floculation plus apparente par leur coloration et, d'autre part, augmenter la masse des floculats, en les rendant plus gros et plus perceptibles à l'œil nu. La coloration de contraste est fournie par les colorants de la solution physiologique qui ne permet pas de colorer les floculats et en se mélangeant avec le colorant de l'extrait, doivent donner une coloration fondamentalement différente de ces deux colorants, pris séparément.

Le colorant de l'extrait ne laisse aucune trace, après la floculation, dans le liquide surnageant.

Cette méthode permet d'obtenir un tableau, soit de couleurs, par le choix de la coloration de l'antigène.

La lecture des résultats est grandement facilitée, permettant ainsi éliminer en partie le facteur personnel, cause des erreurs.

La sensibilité est légèrement augmentée à cause de la facilité de la lecture.

Les sérums réagissant positivement — montrent, soit un flocon rouge brillant (*Hecht-Muller*), soit un précipité rouge (*Kahn, Sachs-Witebsky*), après la formation desquels la couleur de contraste choisie devient bleue, violette ou verte.

Les sérums réagissant négativement ne montrent ni flocons ni précipité, mais, par contre, un liquide trouble violet, verdâtre ou bleuâtre.

Cette distinction est facile à décèler et à interpréter.

Par l'introduction de la méthode de la double coloration dans les réactions de floculation, le Dr. *Hecht* a réussi à diminuer les erreurs d'interprétation dues à la difficulté de situer convenablement le seuil de la positivité.

Vu : *Le Doyen*,

G. ROUSSY.

Vu : *Le Président de la Thèse*,

GOUGEROT.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- HECHT. — Die Grundlagen einer neuen Flokungsreaktion bei Syphilis. — Archives für Dermatologie und Syphilis 1921, B. 136, Heft 2.
- HECHT. — Eine neue Flokungsreaktion. — Deutsche medizinische Wochenschrift 1921, N° 49, page 1487.
- HECHT. — Prager medizinische Wochenschrift 1925, B. 39, N° 25.
- MULLER. — Réaction de congglomération avec les sérums syphilitiques. — Ach. für Dermat. und Syphilis 1925.
- MULLER. — Die Ballungsreaktion bei Lues und ihre Verwendbarkeit bei nichtluetischen Infektionen. Klinische Wochenschrift 1932, N° 46.
- LEVIN J. — Réaction de congglomération de Muller. Thèse Paris, 1932.
- DEMANCHE R. — Les réactions de floculation et de sérodiagnostic de la syphilis. Bull. Médical 1932, janvier.
- RUBINSTEIN. — Traité pratique de sérologie et sérodiagnostic.
- HECHT. — Medizinische Klinik 1934, N° 3.

HECHT. — Les réactions colorées de flocculation. Annales des Maladies Vénériennes, juillet 1933.

HECHT. — Giornale Ital. di dermatol. et syphil. Fasc. VI, 1933.

BRONZINI. — Giornale Ital. di dermat. et syphil. 1934, N° 2.

WEICHLERZ. — Casopis c lek, N° 39, 1934.
